

University of Groningen

Enzym-katalysierte, regioselektive Steroidhydroxylierungen

Bracco, P.; Kirschner, A.; Dekker, M.; Janssen, D.B.

Published in:
 Chemie Ingenieur Technik

DOI:
[10.1002/cite.201050219](https://doi.org/10.1002/cite.201050219)

IMPORTANT NOTE: You are advised to consult the publisher's version (publisher's PDF) if you wish to cite from it. Please check the document version below.

Document Version
 Publisher's PDF, also known as Version of record

Publication date:
 2010

[Link to publication in University of Groningen/UMCG research database](#)

Citation for published version (APA):

Bracco, P., Kirschner, A., Dekker, M., & Janssen, D. B. (2010). Enzym-katalysierte, regioselektive Steroidhydroxylierungen. *Chemie Ingenieur Technik*, 82(9), 1524-1524.
<https://doi.org/10.1002/cite.201050219>

Copyright

Other than for strictly personal use, it is not permitted to download or to forward/distribute the text or part of it without the consent of the author(s) and/or copyright holder(s), unless the work is under an open content license (like Creative Commons).

The publication may also be distributed here under the terms of Article 25fa of the Dutch Copyright Act, indicated by the "Taverne" license. More information can be found on the University of Groningen website: <https://www.rug.nl/library/open-access/self-archiving-pure/taverne-amendment>.

Take-down policy

If you believe that this document breaches copyright please contact us providing details, and we will remove access to the work immediately and investigate your claim.

Downloaded from the University of Groningen/UMCG research database (Pure): <http://www.rug.nl/research/portal>. For technical reasons the number of authors shown on this cover page is limited to 10 maximum.

sion weitaus höher als die Reaktionsrate (pro Flächeneinheit), so dass auch der Stofftransport in den NZ435-Partikeln

die Reaktionsrate nicht beeinflusst. Diese ist damit ausschließlich durch die Reaktionskinetik bestimmt. Das eigent-

liche kinetische Modell für die gesamte chemo-enzymatische Reaktion wird aktuell entwickelt.

P7.03

Enzym-katalysierte, regioselektive Steroidhydroxylierungen

P. Bracco¹⁾, Prof. A. Kirschner¹⁾ (E-Mail: a.kirschner@biotec.rwth-aachen.de), M. Dekker²⁾, Prof. D. B. Janssen²⁾

¹⁾RWTH Aachen, Lehrstuhl für Biotechnologie, Worringerweg 1, D-52074 Aachen, Germany

²⁾Universität Groningen, GBB, Abteilung Biotechnologie, Kerklaan 30, NL-9751 NN Haren, The Netherlands

DOI: 10.1002/cite.201050219

Cytochrom P450-Monooxygenasen stellen wichtige Enzyme für die Anwendung in der Biokatalyse dar, z. B. zur Herstellung pharmazeutisch relevanter Steroidderivate, da sie in der Lage sind, nicht-aktivierte C-Atome mit Hilfe von Luftsauerstoff selektiv zu hydroxylieren. Wir konnten zeigen, dass eine in der Literatur beschriebene bakterielle P450-Monooxygenase aus *Nocardia farcinica* (CYP154) verschiedene Steroide wie Testosteron, Progesteron, Pregnenolon und Nandrolon regioselektiv zu jeweils nur einem monohydroxylierten Produkt umsetzt. Um die hohe Regioselektivität des Enzyms zu verstehen und später gezielt verändern zu können, wurden mittels Substrat-Docking verschiedene Aminosäurereste im aktiven Zentrum

identifiziert, welche vermutlich an der Substratbindung beteiligt sind und somit die Regioselektivität des Enzyms direkt beeinflussen. Diese Reste wurden anschließend gezielt mutiert und die erhaltenen Mutanten erneut in Biokatalysen mit verschiedenen Steroiden auf ihre Aktivität und Regioselektivität hin untersucht. Dabei konnten Mutanten mit deutlich veränderter Substratspezifität und Selektivität im Vergleich zum Wildtyp-Enzym identifiziert werden. So ist z. B. die Mutante M84A nicht mehr in der Lage, Nandrolon und Pregnenolon zu hydroxylieren, während strukturell ähnliche Steroidsubstrate wie Testosteron und Progesteron nach wie vor zu den entsprechenden monohydroxylierten Produkten umgesetzt werden.

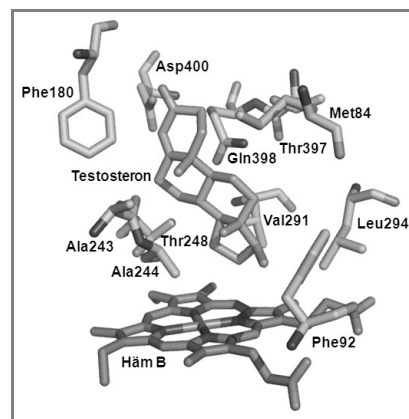


Abbildung. Bindung von Testosteron im aktiven Zentrum von CYP154.

P7.04

Green Notes – Natürliche Aromastoffe durch biokatalytische Umwandlung von Fettsäuren

Dr. M. Buchhaupt¹⁾ (E-Mail: buchhaupt@dechema.de), Dr. M. M. W. Etschmann¹⁾, PD Dr. J. Schrader¹⁾

¹⁾DECHEMA e.V., Karl-Winnacker-Institut, AG Bioverfahrenstechnik, Theodor-Heuss-Allee 25, D-60486 Frankfurt/Main, Germany

DOI: 10.1002/cite.201050434

Die für den charakteristischen Duft von frisch geschnittenem Gras verantwortlichen Aldehyde und Alkohole Hexanal, Hexenal und Hexenol sind für die Aroma- und Riechstoffindustrie von großer Bedeutung. Derzeitige Verfahren zur Herstellung von natürlichen „green note“-Substanzen verwenden als Quelle der beiden notwendigen Enzyme Lipxygenase (LOX) und Hydroperoxid-Lyase (HPL) Pflanzenhomogenate mit relativ geringen Enzymkonzentrationen und Produktspezifitäten. Um diese Probleme zu umgehen, wurden Hefe-

zellen mit beiden pflanzlichen Enzymaktivitäten in Linolensäure-Biotransformationen eingesetzt. Dabei führte nur der Einsatz ruhender Zellen zur Bildung des primären Produkts 3(Z)-Hexenal, welches zu 2(E)-Hexenal isomerisieren kann. Zusätzlich wird ein bestimmter Anteil beider Aldehyde durch Alkohol-Dehydrogenase-Aktivitäten der Hefe zu den entsprechenden Alkoholen reduziert. Da das Cosolvens Ethanol die Quelle der Reduktionsäquivalente darstellt, konnte das Hexenal/Hexenol-Verhältnis durch die Verwendung alternati-

ver Cosolventien deutlich gesteigert werden. Kann die Stabilität des Biokatalysators weiter verbessert werden, bietet die Fettsäure-Biotransformation mit LOX- und HPL-exprimierenden Hefezellen eine ökonomisch attraktive Möglichkeit zur Herstellung natürlicher „green notes“. Das Projekt wird aus Mitteln des Bundesministeriums für Wirtschaft und Arbeit über die Arbeitsgemeinschaft industrieller Forschungsvereinigungen AiF e.V. unter der Nummer 15088 N gefördert.